(19) BUNDESREPUBLIK DEUTSCHLAND

PATENTSCHRIFT



5



(12) Ausschließungspatent

Erteilt gemäß § 17 Absatz 1
Patentgesetz der DDR
vom 27.10.1983
in Übereinstimmung mit den entsprechenden
Festlegungen im Einigungsvertrag

5(51) C 07 D 295/04 C 07 D 277/04 C 07 D 403/02 C 07 D 409/02 C 12 N 9/99

DEUTSCHES PATENTAMT

In der vom Anmelder eingereichten Fassung veröffentlicht

(21) DD C 07 D / 331 544 5 (22) 07.08.89 (44) 21.11.91

(71) siehe (73)

(72) Neubert, Klaus, Doz. Dr. sc. nat. Dipl.-Chem.; Born, Ilona, Dr. rer. nat. Dipl.-Chem.; Faust, Jürgen, Dr. rer. nat. Dipl.-Chem.; Heins, Jochen, Dr. rer. nat. Dipl.-Blochem.; Barth, Alfred, Prof. Dr. sc. nat. Dipl.-Chem.; Demuth, Hans-Ulrich, Dr. sc. nat. Dipl.-Blochem.; Rahfeld, Jens U., Dipl.-Blochem.; Steinmetzer, Torsten, Dipl.-Blochem., DE

(73) Martin-Luther-Unviersität Halle – Wittenberg, Universitätsplatz 10, O - 4010 Halle, DE

(74) siehe (73)

.858

(54) Verfahren zur Herstellung neuer Inhibitoren der Dipeptidyl Peptidase IV

(55) Inhibitoren; Dipeptidyl Peptidase IV; Aminosäurederivate; heterocycilsche Amidstruktur; Herstellung; kompetitive Hemmung; Therapeutika; Medizin; Immunbiochemie; pharmazeutische Industrie
(57) Die Erfindung bezieht sich auf ein Verfahren zur Herstellung neuer Inhibitoren der Dipeptidyl Peptidase IV auf der Basis spezieller Aminosäurederivate mit heterocyclischer Amidstruktur, die die katalytische Aktivität des Enzyms in gereinigter Form als auch in normalen oder pathologisch veränderten menschlichen und tierischen Seren, in Organen, Geweben und Zellen menschlicher, tierischer, pflanzlicher und mikrobieller Herkunft sowohl in vivo als auch in vitro kompetitiv hemmen und als potentielle Therapeutika in Bereichen der durch die Dipeptidyl Peptidase IV regulativ gesteuerten Stoffwachselprozesse zur Anwendung kommen. Die Erfindung ist zur Anwendung in der Medizin, insbesondere in der Immunbiologie und Pathologie und für die pharmazeutische Industrie von Bedeutung.

ISSN 0433-6461

7 Seiten

DECT MAIL ARLE CORV

Patentanspruch:

 Verfahren zur Herstellung neuer Inhibitoren der Dipeptidyl Peptidase IV, gekennzeichnet dadurch, daß Aminosäureamide der allgemeinen Formel I

A-B (I)

synthetisiert werden, worin A und B wie folgt definiert sind:

A = a-Aminocarbonsäure der Struktur H₂N-CHR-COOH (R = aliphatischer, aromatischer oder heterocyclischer Rest, beispielsweise Alanin, Valin, Leucin, Serin, Threonin, Cystein, Methionin, Prolin, Lysin, Arginin, Histidin, Glutaminsäure, Glutamin, Asparaginsäure, Asparagin, Phenylalanin, Tyrosin, Tryptophan, Norvalin, Norleucin, Ornithin, 2,4-Diaminobuttersäure, a-Aminobuttersäure, vorzugsweise Isoleucin- Jewells in der L-Konfiguration, a-Aminoisobuttersäure, Im Falle der trifunktionellen Aminosäuren auch die entsprechenden N°- oder C°- oder O- bzw. S-substituierten Derivate in der L-Konfiguration, vorzugsweise N°-Acyl, C°- bzw. O-Benzyl-Aminosäuren, beispielsweise N°-4-Nitrobenzyloxycarbonyl-L-Lysin, O-Benzyl-L-Serin, O-Benzyl-L-Tyrosin, L-Glutaminsäure-y-benzylester, L-Asparaginsäure-β-benzylester sowie entsprechende, insbesondere durch Halogen, Nitro-, Hydroxy-, niedere lineare oder verzweigte Alkyl- bzw. Alkoxy-Reste ringsubstituierte Derivate des L-Phenylalanins, L-Tyrosins, L-Tryptophans, vorzugsweise

(CHa) e CH-COOH mit n = 2.3 beispielsweise L-Azetidin-2-carbonsāure, der Struktur HN L-Prolin, L-Pipecolinsaure, verwandte Verbindungen wie L-3,4-Dehydroprolin, L-Thioprolin sowie die entsprechenden durch Halogen-, Nitro-, Hydroxy-, Cyano-, niedere lineare oder verzweigte Alkyl- bzw. Alkoxyreste substituierten Derivate, beispielsweise L-4-Hydroxyprolin. B = spezielle heterocyclische Amine oder heterocyclische Aminaldehyde: Pyrrolln, Thiazolln, Piperidin, Morpholin, Pyrazolin, Pyrazolidin, Piperazin, Oxazolin, Oxazolidin, Imidazolin, Imidazolidin, Azetidin, Aziridin vorzugsweise Pyrrolidin, Thiazolidin, L-Prolinal, L-Thioprolinal, sowie die entsprechenden durch Halogen-, Altro-bzw. Alkykreste substitulerten Derivate und ihre Darstellung ausgehend von X-A-Y bzw: X-A(Z)-Y (im Falle einer trifunktionellen Aminosäure für A) durch Umsetzung mit B, worin A und B wie oben definiert sind, X für eine in der Peptidchemie gebräuchliche a-Aminoschutzgruppe, vorzugsweise der tert. Butyloxycarbonyl-Rest steht, Z in Abhängigkeit von der Struktur der trifunktionellen Aminosäure eine gebräuchliche Seitenkettenschutzgruppe, bevorzugt vom tert. Butyl-Typ (tert. Butyloxycarbonyl, tert. Butylester, O- oder S-tert. Butyi) darstellt, und Y Hydroxy, Aktivester, bevorzugt Pentafluorphenyi bzw. N-Hydroxysuccinimidester bedeutet nach den in der Peptidchemie üblichen Methoden zur Knüpfung der Amidbindung, vorzugsweise über die Mischanhydridtechnik bzw. die 😇 Aktivestermethode erfolgt und anschließend die für X und Zeingesetzten Schutzgruppen mit den in der Peptidchemie üblichen Deblockierungsverfahren für die oben genannten Schutzgruppen vom tert. Butyl-Typ durch Acidolyse entfernt und falls erforderlich durch Umkristallisation bzw. durch. Säulenchromatographie an Sephadex G 10 oder schwach saurem lonenaustauscher gereinigt

 Verfahren zur Herstellung neuer Inhibitoren der Dipeptidyl Peptidase IV nach Anspruch 1, gekennzeichnet dedurch, daß die Aminosäurederivate

Ne-pyrrolidid,

lle-thiazolidid,

lle-prolinal,

lle-thioprolinal,

Nº-4-Nitrobenzyloxycarbonyl-Lys-pyrrolidid,

Nº-4-Nitrobenzyloxycarbonyl-Lys-thiazolidid,

Nº-4-Nitrobenzyloxycarbonyl-Lys-prolinal

4-Nitro-L-Phenylalanin bzw. o-Iminocarbonsäuren

Nº-4-Nitrobenzyloxycarbonyl-Lys-thioprolinal.

hinsichtlich ihrer Inhibitorischen Wirkpotenz bevorzugte Verbindungen darstellen.

3. Verfahren zur Herstellung nauer Inhibitoren der Dipeptidyl Peptidase IV nach Anspruch 1 und 2, gekonnzeichnet dadurch, daß diese und/oder deren pharmazeutisch annehmbare Salze die katalytische Aktivität des Enzyms in gereinigter Form als auch in normalen oder pathologisch veränderten menschlichen und tierischen Organen, Geweben und Zellen menschlicher, tierischer, pflanzlicher und mikrobieller Herkunft sowohl in vivo als auch in vitro hemmen und als potentielle Therapeutika in Bereichen der durch die Dipeptidyl Peptidase IV regulativ gesteuerten Stoffwechselprozesse für die Medizin von Bedeutung sind.

Anwendungsgebiet der Erlindung

Die Erfindung betrifft ein Verfahren zur Herstellung neuer Inhibitoren der Dipeptidyl Peptidase IV (DPIV) auf der Basis spezieller Aminosäurederivate mit heterocyclischer Amidstruktur. Die erfindungsgemäßen Verbindungen hemmen die katalytische Aktivität der Dipeptidyl Peptidase IV kompetitiv und können als reversible DD IV-Inhibitoren Im Bereich medizinisch-biologischer Prozesse, an denen das Enzym funktionell beteiligt ist, als potentielle Diagnostika bzw. Therapeutika zur Anwendung kommen. Die Erfindung ist zur Anwendung in dar Human- und Veterinärmedizin, Pathobiochemie, Pharmakologie, Immunbiochemie und für die pharmazeutische Industrie geeignet.

Charakteristika des bekannten Stondes der Technik

Die Dipeptidyl Peptidase IV ist ein im Säugerorganismus ubiquitär vorkommendes Enzym. Sie ist eine Serinprotease mit ausgeprägter Substratspezifität, die konsekutiv vom N-terminalen Ende einer Peptid- oder Proteinkette Dipeptide der Struktur X_{or}-Pro und X_{or}-Ala abspaltet, vorausgesetzt in dritter Position der Sequenz befinden sich keine Prolin- oder Hydroxyprolin-Reste (vgl. Küllertz et al., Dipeptidyl Peptidase IV - Chemie, Biochemie und physiologische Aspekte, Bekräge zur Wirkstofforschung Heft 11, Akademie-Industrie-Komplan Arzneimittelforschung 1981). Neuere Befunde zeigen, daß die Dipeptidyl Poptidase IV ein physiologisch-blochemisch roleventes Enzym zu sein scheint, das en einer Reihe von Stoffwachselprozessen, u.a. der Blutdruckregulation, Blutgerinnung und Proliferationsprozessen funktionall beteiligt ist (vgl. G. Küllertz et al., Dipaptidyl Peptidase IV-Biochemie, Physiologie und Pathobiochemie, Beiträge zur Wirkstofforschung, Heft 27, Akademie-Industrie-Komplex Arzneimittelforschung 1998). Bekannt ist, daß X_m-Pro-bzw. X_{oc}-Ala-Dipaptide als kompetitive Inhibitoren der Dipaptidyl Peptidase IV wirksam sind, wobei ihre inhibitorische Wirkpotenz von der Struktur des N-terminalen Aminosäure X₃ abhängig ist. Insgesamt gesehen ist aber ihre inhibitorische Wirksamkelt nicht stark ausgeprägt (H.U. Demuth, Dissertation A, Math. Nat. Fakultät der Universität Helle 1981). Derüber hineus wurden kürzlich irreversible Inhibitoren (Acylenzyminhibitoren) für die Dipeptidyl Peptidese IV vom Dipeptidyl-O-Aroyl-hydroxylamin-Typ beschrieben (vgl. H. U. Demuth et al., J. Enzyme Inhibition [1888], 2, 129). Bei solchen inhibitoren sind tottikologische Bedenken bei in-vivo-Untersuchungen nicht auszuschließen. Außerdem ist im Falle eines therapsutischen Einsatzes von DP IV-inhibitoren der reversiblen Hemmung von Enzymaktivitäten der Vorzug zu geben.

Ziel der Erfindung

Das Ziel der Erfindung besteht darin, einfach herstellbare, hochwirksame reversible inhibitoren für die Dipeptidyl Peptidase IV auf der Basis spezieller Aminosäuraderivate mit heterocyclischer Amidstruktur zur Verfügung zu stellen, die als gut verträgliche Substanzen sowohl in vitro als auch in vivo die katalytische Aktivität der DP IV kompetitiv hemmen, wobel zwectigebunden in Abhängigkeit von der Molekülstruktur eine graduelle Abstufung ihrer inhibitorischen Potenz erreicht werden kann und die bevorzugt in der Medizin, sowohl im Bereich der Diagnostik als auch in der Therapie von Bedeutung sein könnten.

Darlegung des Wesens der Erfindung

Der Erfindung liegt die Aufgabe zugrunde, neue Inhibkoren für die Dipeptidyl Peptidase IV vom Aminosäureamid-Typ zu entwickeln, die reversibel die katalytische Aktivität der DP IV hemmen und sich durch folgende Vorteile auszeichnen:

- 1. Einfache Molekülstruktur
- 2. Einfache und damit kostengünstige Herstellung
- 3. Gezielte Modulierung der inhibitorischen Wirkpotenz durch Strukturmodifikation
- 4. Günstige physikalisch-chemische Parameter im Sinne einer hohen Penetrierfähigkeit
- 5. Hohe Bioverfügbarkeit am Wirkort

Die Aufgabe wird dadurch gelöst, daß Aminosäureamide der allgemeinen Formel I

A-B

(1)

synthetisiert werden, worin A und 8 wie folgt definiert sind:

A = g-Aminocarbons@ure der Struktur H₂N-CHR-COOH (R-aliphatischer, erometischer oder heterocyclischer Rest): beispielsweise Alanin, Valin, Leucin, Serin, Threonin, Cystein, Methionin, Prolin, Lysin, Arginin, Histidin, Giutaminsäure, Glutamin, Asparagin, Phenylalanin, Tyrosin, Tryptophan, Norvalin, Norleucin, Ornithin, 2,4-Diaminobuttersäure, g-Aminobuttersäure, vorzugsweise Isoleucin- Jewells in der L-Konfiguration, g-Aminoisobuttersäure, im

rest available CO



Falle der trifunktionellen Aminosäuren auch die emsprechenden N°- oder C°- oder O- bzw. S-substituierten Derivate in der L-Konfiguration, vorzugsweise N°-Acyt-, C°- bzw. O-Benzyl-Aminosäuren, beispielsweise N°-4-Nitrobenzyloxycerbonyl-L-Lysin, O-Benzyl-L-Tyrosin, L-Glutaminsüuro-y-benzylester, L-Asparaginsäure-β-benzylester cowie entsprechende, insbesondere durch Halogen-, Nitro-, Hydroxy-, nizdere lineare oder verzweigte Aikyl- bzw. Alkoxy-Reste ringsubstituierte Derivate des L-Phenylalanins, L-Tyrosins, L-Tryptophans, vorzugsweise 4-Nitro-L-Phenylalanin, bzw. α-Iminocarbonsäuren der Struktur

mit n = 2,3,4, beispielsweise L-Azetidin-2-carbonsäure, L-Prolin, L-Pipacolinsäure, verwandte Verbindungen, wie L-3,4-Dehydroprolin, L-Thioprolin sowie die entsprechenden durch Halogen-, Nitro-, Hydroxy-, Cyano-, niedere lineare oder verzweigte Alkyl bzw. Altoxyreste substituierten Derivate, beispielsweise L-4-Hydroxyprolin.

B = spezielle heterocyclische Amine oder heterocyclische Aminaldehyde: Pyrrolin, Thiazolin, Piperidin, Morpholin, Pyrazolin, Pyrazolidin, Piperazin, Oxazolin, Oxazolidin, Imidazolin, Imidazolidin, Azetidin, vorzugsweise Pyrrolidin, Thiazolidin, L-Prolinal, L-Thioprolinal, sowie die entsprechenden durch Halogen-, Nitro- bzw. Altyfreste substituterten Derivate.

Einige als DP IV-Inhibitoren bevorzugte erfindungsgemäße Verbindungen sind die Aminosäurederivate:

lle-pyrrolidid,
lle-thiszolidid,
lle-prolinal,
lle-thioprolinal,
N°-4-Nitrobenzyloxycarbonyl-Lys-pyrrolidid,
N°-4-Nitrobenzyloxycarbonyl-Lys-thiszolidid,
N°-4-Nitrobenzyloxycarbonyl-Lys-prolinal,
N°-4-Nitrobenzyloxycarbonyl-Lys-thioprolinal,

Die Darstellung der erfindungsgemäßen Aminosäureamide als reversible inhibitoren der DP IV erfolgt ausgehend von X-A-Y bzw. X-A(Z)-Y (im Falle einer trifunktionellen Aminosäureafür A) durch Umsetzung mit B, worin A und B wie zuvor definiert sind, X für eine in der Peptidschicht gebräuchliche a-Aminoschutzgruppe steht (vgl. E. Wünsch, Synthese von Peptiden in Houben Weyl Band 15/l, Wiethoden der organischen Chamie, Ed. E. Wüllier, Georg-Thieme-Verlag Stuttgart 1974), vorzugsweise ein tert. Butyloxycarbonyl-Rest, Z in Abhängigkeit von der Natur der trifunktionellen Aminosäure eine gebräuchliche Seitenkettenschutzgruppe darstellt, bevorzugt vom tert. Butyl-Typ, d.h. für den Schutz der N^o-Aminofunktion kommt der tert. Butyloxycarbonyl-Rest, für die Blocklerung der a-ständigen Carboxygruppen der tert. Butylester und für Hydroxy-bzw.
Thiolfunktionen der tert. Butyl-Rest zum Einsatz und Y Hydroxy, Abivester, bevorzugt Pentafluorphenyl-bzw.
N-Hydroxyoucclnimidester bedeutet, nach den in der Peptidchemie üblichen Methoden zur Knüpfung der Amidbindung nämlich N,N-Dicyclohexylcarbodilmid, N,N-Dicyclohexylcarbodilmid/Additive (bevorzugt 1-Hydroxybenzotriazol), aktivierte Ester, Mischanhydrid, Säurechlorid (vgl. E. Wünsch s. o.) eder 2-(1 H-Benzotriazol-1-yl-1-1, 2,3-tetramethyluroniumsalze (vgl. R. Knorr et al., Abstractu 20th Europ. Peptide Symposium Tübtingen 1988) bzw. Benzotriazol-1-yl-axy-tris(dimethylamino)phosphoniumsalze (vgl. A. Fournier et al., Int. J. Peptide Protein Res., 1988, 31, 86) zu den geschützten Aminosäureamiden der allgemeinen Formel II und III

X-A-B
X-A(Z)-B

mit A, B, X, Z in der obigen Definition.

Vorzugsweise erfolgte die Knüpfung der Amidbindung zwischen A und 8 über die Mischanhydridtechnik bzw. die Aktivestermethode, wobei bevorzugt N-Hydroxysuccinimid- oder Pentafluorphenylester zum Einsatz kommen. Die erhaltenen geschützten Aminosäureamide der aligemeinen Formel il und III können, falls erforderlich, durch Umkristallisation bzw. durch Säulenchromatographie an Kleselgel oder LH-20 gereinigt werden. Nach gleichzeitiger oder nacheinander geschalteter Abspaltung der für X und Z eingesetzten Schutzgruppen mit den in der Peptidchemie üblichen Deblockierungsverfahren (vgl. E. Wünsch s. o.) für die genannten bevorzugten Schutzgruppen tert. Butyloxycarbonyl, tert. Butylester, tert. Butyl durch Acidolyse (u. a. mittels HCI/Essigsäure; HCI/Essigsater; HCI/Dioxen; Trifluoressigsäure gegebenenfalls in Gegenwart von Kationenfängern) erhält man die gewünschten Aminosäureamide der aligemeinen Formel I, die, falls erforderlich, durch Umkristallisation bzw. durch Säulenchromatographie an Sephadax G 10 oder an schwach sauren ionenaustauschern gereinigt werden können.

Die erfindungsgemäß erhaltenen Aminosäurederivate mit heterocyclischer Amidstruktur gemäß Formel i und/oder deren pharmazeutisch annehmbare Salze können als reversible inhibitoren der Dipeptidyl Peptidase IV die katalytische Aktivität des Enzyms in gereinigter Form als auch in normalen oder pathologisch veränderten menschlichen und tierischen Seren, in Organen, Geweben und Zellen menschlicher, tierischer, pflanzlicher und mikrobieller Herkunft sowohl in vivo als auch in vitro hemmen und als potentielle Therapautika in Bereichen, der durch die Dipeptidyl Peptidase IV regulativ gesteuerten Stoffwechselprozesse, vorzugsweise im Rahmen der Blutdruckregutstion, der Blutgerinnung, der Zellproliferation, aber auch im Processing biologisch aktiver prolinhaltiger Peptide zur Anwendung kommen.

Die Erfindung soll anhand von Ausführungsbeispielen näher erklärt werden, ohne sie einzuschränken.

Ausführungsbeispiele

Es werden folgende Abkürzungen verwendet:

Aminosāuresymbole entsprechend IUPAC-(UB Joint Commission on Biochemical Nomenclature, Biochem. J., 219, 345 (1984).

SPro L-Thioprolin (L-Thiazolidin-4-carbonsāure)

AcOH Essigsäure

Boc tert. Butyloxycarbonyl

CAIBE Chlorkohlensäureisobutylester

DC Dünnschichtchromatogramm, -chromatographisch

DPIV Dîpeptidyl Peptidase IV

d.Th. derTheorie

EE Essigsäureethylester

EtOH Ethanol

Fp Schmetzpunkt

h Stunde(n)

i, Vak im Vakuum

LM Lösungsmittel

MeOH Methanol

Min. Minuten

NEM N-Ethylmorpholin
OPfp Pentafluorphenylester

pNA 4-Nitroanilld RT Raumtemperatur

SC Säulenchromatographie,-chromatographisch

TEA Triethylamin
THF Tetrahydrofuran

Z(NO₂) 4-Nītrobenzyloxycarbonyl

Unter "üblicher Aufarbeitung" versteht man:

Nach beendeter Kupplungsreaktion wird das jeweilige Rohprodukt in Essigester aufgenommen und die Lösung nacheinander zweimal mit Wasser (NaCl-gesättigt), dreimal mit 5%iger KHSO₄-Lösung, zweimal mit Wasser, dreimal mit gesättigter Natriumhydrogencarbonatiösung und dreimal mit Wasser gewaschen. Die organische Phase wird über Na₂SO₄ getrocknet und das Rohprodukt durch Abdampfen des Lösungsmittels im Vakuum Isollert.

Folgende Laufmittelssysteme (in Volumenanteilen) zur Dünnschichtehromatographie auf Silicagei-Fertigplatten (Silufoi UV 254, CSSR) wurden verwendet:

BAE	Benzen-Aceton-Essigsäure	70+30+1,5
BAW	2-Butanol-Ameisensäure-Wasser .	75+15+20
BEWE	1-Butanol-Essigsäure-Wasser-Essigester	20+20+20+20
BPEW	1-Butanol-Pyridin-Essigsäure-Wasser	30+20+6+24
CM	Chloroform-Methanol	90 + 10
EPEW	Essigester-Pyridin-Essigsäure-Wasser	90+15+45+23

Zur Ermittlung der Inhibitorischen Aktivität der erfindungsgemäß synthetisierten DP IV-Inhibitoren wurden die Ki-Werte durch Auftragung nach Dixon (in: J.Lasch, Enzymkinetik, Fischer-VLG, Jena 1987) 1/vi gegen [i] aus dem Schnittpunkt von mindestens 3 Geraden ermittelt.

vi - gemessene initialgeschwindigkeit der DP IV-katalysiorten Hydrolyse des Substrates Ala-Pro-pNA

[1] - Konzentration des als DP IV-Inhibitor untersuchten Aminosäureamides im Meßansatz

Die Messungen wurden bei pH 6,3 in 0,04 M Phosphatpuffer durchgeführt. Die Ionenstärke betrug 0,125, eingestellt mit Kallumchlorid. Die Temperatur des Meßansatzes betrug 30°C. Die Bestimmung des Wertes für vi wurde bei jeder Substrat- und Inhibitorkonzentration 3fach durchgeführt.

Beispiel I

N°-4-Nitrobenzyloxycarbonyl-L-Lysin-pyrrolidid · hydrochlorid (H-Lys[Z(NO₂)]-N · HCI)

2,95g Boc-Lys[Z(NO₂)]-OH wurden in 30ml THF gelöst und bei -15°C mlt 880 µl NEM und 900 µl CAIBE versetzt. Nach 6 Min. wurden 673 µl Pyrrolldin bei -15°C zugegeben. Man ließ 1h bei -15°C und über Nacht bei RT rühren. Die Aufarbeitung erfolgte wie üblich. Das nach Trocknen i. Vak. erhaltene amorphe Boo-Lys[Z(NO₂)]-N wurde in 20 ml 1,1 N HCI/AcOH gelöst und 30 Min. bei RT gelassen. Das Produkt wurde mit Ether ausgefällt und anschließend aus McOH/Ether umkristallisiert. Die weitere Reinigung erfolgte SC an Sephadex G 10 mlt 0,1 M AcOH als Elutionsmittel.

Ausbeute;

Fp: 157-160°C

[a]20: +9,67°(c=1, AcOH)

DC: einheitlich in BAW, BEWE und BPEW

Ki: $(3.48 \pm 0.5) \cdot 10^{-7}$ M

いのできませんかんかったい

	·			•	•	
L-Valin-pyrrolidid · hy			•			: '
1,086g Boo-Val-OH w 413µl Pyrrolidin zu un	urden in 20 ml EE gelöst und bei –20°C mi d ließ 1 h bei –20°C und über Nacht bei RT	t 640 µl NEM und 650 rühren. Die Aufarbel	μί CAIBE vers tung arfolgte	etzt, Nach 8 Min. 1 wie üblich. Das öl	lügte man ige	. 1
Boo-Val-N W	urde bei RT 30 Min. mit 3N HCVEE behand	elt. Nach Einengen de	es LM i. Vak. k	oristallisierte das P	rodukt aus	
EtOH/EE in farblosen	Vadeln aus.					
	620 mg (60,3 % d. Th.)	•			•	
· Fp: [a]go:	178-180°C +33,93° (c=1, AcOH)	•		: .		• .
DC:	einheitlich in BAW, BEWE und BPEW					œ
Ki:	(4,75±0,7)=10 ⁻⁷ M				: .	\widetilde{m}
		•	:			(2)
Beispiel III		_	;			. –
	· hydrochlorid (H-llo-N - HCl)	•		• •	• •	. >
1,98g Boo-lle-OPfp w 1 h bei RT rühren. Nac	urden in 15ml THF geläst und bei 0°C mit 4 h Abziehen des LM I. Vak. wurde der Rückst	50µl Pyrrolidin und 20 and in EE aufgenomn	30 µl TEA vers nen und mit H	etzt. Man fieß 1 h b 2O, KHSO4-Lösun;	ei 0°C und g und H _z O	AVAILABLE
gewaschen und über	Na ₂ SO ₄ getrocknet, Der EE wurde î. Vak. at	ogezogen und das öli	ge Boo-llo-N	30Min. b	ei RT mit	= '
	behandelt. Das Produkt wurde zunächst mi				Hund P ₂ O ₅	➣
getrocknet und ansch	ließend aus isopropanol/Diisopropylether	r umkristallisiert.		. -		<u> </u>
	760 mg (68,8 % d. Th.)	•		••		<u></u>
Fp:	179-184°C ·	•				111
(a)}°: DC:	+29,31° (c = 1, AcOH) einheitlich in BAW, BEWE und BPEW			•		\mathcal{O}
Ki:	(2,43 ± 0,1)+10 ⁻⁷ M	٠.			٠,	
,				•	•	Ū
Beispiel IV		•				
L-Thioprolin-pyrrolid	id hydrochlorid	•				
versetzt. Nach 8Min. 1 bei RY rühren. Danac Aufnehmen des ölige	i wurden in 10 ml THF gelöst und nach Abl fügte man bel –20°C 443 µl Pyrrolidin hinzu h wurde i. Vak. eingeengt, der Rückstand ir in Rückstandes mit n-Hexan setzte Kristalli 416 mg (38% d. Th.) 108–109°C	ı, ließ die Reaktionsmi n EE aufgenommen u	ischung noch	:1 h bei −20°C und	über Nacht	17 17 の の の の の の の の の の の の の の の の の
[a]}*:	-154,2°(c=0,62, AcOH)			•	•	· · · · · · · · · · · · · · · · · · ·
DC:	einheitlich in BAE, CM, EPEW		•		. : .	•
٠ .						
IV. 2. H-SPro-N] - нст	•		<u>.</u>	•	. 3
	-	iðst. mit 300 ul Thioar	ulsol versetzt	्र und 30Min, bei RT	Г	
265mg Bóo-SPro-N	wurden in 3 ml 1,1 N HCVAcOH gel					
265 mg Boo-SPro-N stehengelassen. Ans	wurden in 3 ml 1,1 N HCL/AcOH gel chließend engte man I. Vak. ein, versetzte d					
265 mg Boo-SPro-N stehengelsssen. Ans Ausbeute: Fp:	wurden in 3 ml 1,1 N HCL/AcOH gel chileßend engte man i. Vak. ein, versetzte d 182 mg (88% d. Th.) 164–166°C					
265 mg Boo-SPro-N stehengelassen. Ans Ausbeute: Fp: [a]][5]	wurden in 3 ml 1,1 N HCI/AcOH gel chließend engte man i. Vak. ein, versetzte d 182 mg (88% d. Th.) 164–166°C –122,7° (c=0,62; AcOH)					
265 mg Boo-SPro-N stehengelsssen. Ans Ausbeute: Fp: [a]] ⁵ : DC:	wurden in 3 ml 1,1 N HCI/AcOH gel chließend engte man i. Vak. ein, versetzte d 182 mg (88% d. Th.) 164–166°C – 122,7° (c = 0,62; AcOH) einheitfich in BAW, BEWE, BPEW					
265 mg Boo-SPro-N stehengelassen. Ans Ausbeute: Fp: [a]][5]	wurden in 3 ml 1,1 N HCI/AcOH gel chließend engte man i. Vak. ein, versetzte d 182 mg (88% d. Th.) 164–166°C –122,7° (c=0,62; AcOH)					
265 mg Boo-SPro-N stehengelassen. Ans Ausbeute: Fp: [a]] ⁶ : DC:	wurden in 3 ml 1,1 N HCI/AcOH gel chließend engte man i. Vak. ein, versetzte d 182 mg (88% d. Th.) 164–166°C – 122,7° (c = 0,62; AcOH) einheitfich in BAW, BEWE, BPEW					
265 mg Boo-SPro-N stehengelassen. Ans Ausbeute: Fp: {a}^{5}: DC: Ki:	wurden in 3 ml 1,1 N HCt/AcOH gel chileBend engte man i. Vak. ein, versetzte d 182 mg (88% d. Th.) 164–166°C –122,7° (c=0,62; AcOH) einheitlich in BAW, BEWE, BPEW (3,95 ± 0,4)•10 ⁻⁶ M					
265 mg Boo-SPro-N stehengelassen. Ans Ausbeute: Fp: {a}{}^{5}: DC: Ki:	wurden in 3 ml 1,1 N HCt/AcOH gel chileBend engte man i. Vak. ein, versetzte d 182 mg (88% d. Th.) 164–166°C –122,7° (c=0,62; AcOH) einheitlich in BAW, BEWE, BPEW (3,95 ± 0,4)•10 ⁻⁶ M					
265 mg Boo-SPro-N stehengelassen. Ans Ausbeute: Fp: [a] C: Ki: Belspiel V L-Isoleucin-thiazolid	wurden in 3 ml 1,1 N HCt/AcOH gel chließend engte man I. Vak. ein, versetzte d 182 mg (88% d. Th.) 164–166°C —122,7° (c=0,62; AcOH) einheitlich in BAW, BEWE, BPEW (3,95 ± 0,4)•10 ⁻⁶ M					
265 mg Boo-SPro-N stehengelassen. Ans Ausbeute: Fp: {alb*: DC: Ki: Belsplei V L-Isoleucin-thlazolid V.1. Boc-Ile-N 2.31 g Boo-Ile-OH w 8 Min. fügte man bel -20°C 1,26 g Thlazol Nacht bel RT rühren. aufgearbeitet. Der ö	wurden in 3 ml 1,1 N HCL/AcOH gelchließend engte man I. Vak. ein, versetzte d 182 mg (88% d. Th.) 164–166°C —122,7° (c=0,62; AcOH) einheitlich in BAW, BEWE, BPEW (3,95 ± 0,4)•10 ⁻⁵ M Id·hydrochlorid urden in 10 ml THF gelöst und bei —20°C ur —20°C 1,26g Thiazolidin-hydrochlorid und veitere 1,27 ml NEA Danach wurde der Ansatz I. Vak. eingeengige Rückstand wurde durch Flash-Chroma	len Rückstand mit Eth inter Rühren mit 1,27 weitere 1,27 mi NEM hi M hinzu, ließ das Reak at, der Rückstand in E	er und kristall mi NEM und 1 inzu, ließ das 1 dionsgemisch E aufgenomn	isierte aus CHCl ₃ /E 1,3ml CAIBE verse Realdionsgemisch h noch 1 h bel – 20 nen und wie üblich	etterum. etzt. Nach noch 1 h bei °C und über h	
265 mg Boo-SPro-N stehengelassen. Ans Ausbeute: Fp: [a] [a] C: Ki: Belsplel V L-Isoleucin-thlazolid V.1. Boc-lle-N 2.31g Boo-lle-OH w 8 Min. fügte man bel -20°C 1,26g Thlazol Nacht bei RT rühren. aufgearbeitet. Der öl	wurden in 3 ml 1,1 N HCL/AcOH gelchließend engte man I. Vak. ein, versetzte d 182 mg (88% d. Th.) 164–166°C —122,7° (c=0,62; AcOH) einheitlich in BAW, BEWE, BPEW (3,95 ± 0,4)•10 ⁻⁶ M id·hydrochlorid urden in 10ml THF gelöst und bei —20°C ur —20°C 1,26g Thiazolidin-hydrochlorid und veitere 1,27 ml NEA Danach wurde der Ansatz I. Vak. eingeeng ige Rückstand wurde durch Flash-Chroma : 952 mg (31% d. Th.)	len Rückstand mit Eth inter Rühren mit 1,27 weitere 1,27 mi NEM hi M hinzu, ließ das Reak at, der Rückstand in E	er und kristall mi NEM und 1 inzu, ließ das 1 dionsgemisch E aufgenomn	isierte aus CHCl ₃ /E 1,3ml CAIBE verse Realdionsgemisch h noch 1 h bel – 20 nen und wie üblich	etterum. etzt. Nach noch 1 h bei °C und über h	
265 mg Boo-SPro-N stehengelassen. Ans. Ausbeute: Fp: [a]5. DC: Ki: Belsplei V L-Isoleucin-thlazolid V.1. Boc-Ile-N 2,31 g Boo-Ile-OH w 8 Min. fügte man bel -20°C 1,26 g Thlazol Nacht bel RT rühren. aufgearbeitet. Der öf	wurden in 3 ml 1,1 N HCL/AcOH gelchließend engte man I. Vak. ein, versetzte d 182 mg (88% d. Th.) 164–166°C —122,7° (c=0,62; AcOH) einheitlich in BAW, BEWE, BPEW (3,95 ± 0,4)•10 ⁻⁶ M id·hydrochlorid urden in 10ml THF gelöst und bei —20°C ur —20°C 1,26g Thiazolidin-hydrochlorid und veitere 1,27 ml NEA Danach wurde der Ansatz I. Vak. eingeeng ige Rückstand wurde durch Flash-Chroma : 952 mg (31% d. Th.)	len Rückstand mit Eth inter Rühren mit 1,27 weitere 1,27 mi NEM hi M hinzu, ließ das Reak at, der Rückstand in E	er und kristall mi NEM und 1 inzu, ließ das 1 dionsgemisch E aufgenomn	isierte aus CHCl ₃ /E 1,3ml CAIBE verse Realdionsgemisch h noch 1 h bel – 20 nen und wie üblich	etterum. etzt. Nach noch 1 h bei °C und über h	The second secon

790 mg Boc-lie-thiazolidid wurden in 8 ml 1,1 N HCI/AcOH gelöst, mit 800 μl Thioanisol versetzt und 30 Min. bei RT stehengelassen. Danach wurde der Ansatz I. Vak. eingeengt und das Produkt mit Ether ausgefällt.

Ausbeute: 584 mg (94 % d. Th.)

118-120°C

Fp: [a]3°: DC: +18,6° (c = 0,77, AcOH) einheidlich in BPEW, BEWE, BAW (1,23 ± 0,2)•10⁻⁷ M

Ki:

REST AVAILARIE COPY